

## 特許協力条約

REC'D 24 MAR 2005

WIPO

PCT

PCT

## 特許性に関する国際予備報告（特許協力条約第二章）

(法第12条、法施行規則第56条)  
〔PCT36条及びPCT規則70〕

|  |                                    |                           |
|--|------------------------------------|---------------------------|
| 出願人又は代理人<br>の書類記号 K-1JST-OS                                      | 今後の手続きについては、様式PCT/IPEA/416を参照すること。 |                           |
| 国際出願番号<br>PCT/JP2004/004090                                      | 国際出願日<br>(日.月.年) 24.03.2004        | 優先日<br>(日.月.年) 25.03.2003 |
| 国際特許分類 (IPC) Int.Cl' C12N5/06, A61K35/28, A61P43/00<br>G01N33/15 |                                    |                           |
| 出願人（氏名又は名称）<br>独立行政法人科学技術振興機構                                    |                                    |                           |

1. この報告書は、PCT35条に基づきこの国際予備審査機関で作成された国際予備審査報告である。  
法施行規則第57条（PCT36条）の規定に従い送付する。

2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 6 ページからなる。

3. この報告には次の附属物件も添付されている。

a  附属書類は全部で 3 ページである。

换正されて、この報告の基礎とされた及び／又はこの国際予備審査機関が認めた訂正を含む明細書、請求の範囲及び／又は図面の用紙（PCT規則70.16及び実施細則第607号参照）

第I欄4. 及び補充欄に示したように、出願時における国際出願の開示の範囲を超えた換正を含むものとこの国際予備審査機関が認定した差替え用紙

b  電子媒体は全部で ディスク、1枚 (電子媒体の種類、数を示す)。  
配列表に関する補充欄に示すように、コンピュータ読み取り可能な形式による配列表又は配列表に関連するデータを含む。（実施細則第802号参照）

4. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。

- 第I欄 国際予備審査報告の基礎
- 
- 第II欄 優先権
- 
- 第III欄 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
- 
- 第IV欄 発明の單一性の欠如
- 第V欄 PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
- 第VI欄 ある種の引用文献
- 
- 第VII欄 國際出願の不備
- 
- 第VIII欄 國際出願に対する意見

|   |                              |    |      |
|---|------------------------------|----|------|
| 国際予備審査の請求書を受理した日<br>01.06.2004                                    | 国際予備審査報告を作成した日<br>04.03.2005 |    |      |
| 名称及びあて先<br>日本国特許庁 (IPEA/JP)<br>郵便番号 100-8915<br>東京都千代田区霞が関三丁目4番3号 | 特許序審査官（権限のある職員）<br>上條 肇      | 4B | 9453 |
|   | 電話番号 03-3581-1101 内線 3448    |    |      |

## 第I欄 報告の基礎

1. この国際予備審査報告は、下記に示す場合を除くほか、国際出願の言語を基礎とした。

- この報告は、\_\_\_\_\_語による翻訳文を基礎とした。  
それは、次の目的で提出された翻訳文の言語である。
- PCT規則12.3及び23.1(b)にいう国際調査
  - PCT規則12.4にいう国際公開
  - PCT規則55.2又は55.3にいう国際予備審査

2. この報告は下記の出願書類を基礎とした。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に応答するために提出された差替え用紙は、この報告において「出願時」とし、この報告に添付していない。)

- 出願時の国際出願書類

明細書  
第 1-35 ページ、出願時に提出されたもの  
第 \_\_\_\_\_ ページ\*、 \_\_\_\_\_ 付けで国際予備審査機関が受理したもの  
第 \_\_\_\_\_ ページ\*、 \_\_\_\_\_ 付けで国際予備審査機関が受理したもの

請求の範囲  
第 1-14, 16-19, 22-24, 26 項、出願時に提出されたもの  
第 \_\_\_\_\_ 項\*、PCT19条の規定に基づき補正されたもの  
第 15, 20, 21, 25 項\*、20.01.2005 付けで国際予備審査機関が受理したもの  
第 \_\_\_\_\_ 項\*、 \_\_\_\_\_ 付けで国際予備審査機関が受理したもの

図面  
第 1-6 ページ/図、出願時に提出されたもの  
第 \_\_\_\_\_ ページ/図\*、 \_\_\_\_\_ 付けで国際予備審査機関が受理したもの  
第 \_\_\_\_\_ ページ/図\*、 \_\_\_\_\_ 付けで国際予備審査機関が受理したもの

配列表又は関連するテーブル  
配列表に関する補充欄を参照すること。

3.  補正により、下記の書類が削除された。

|   |         |       |
|---|---------|-------|
| <input type="checkbox"/> 明細書                      | 第 _____ | ページ   |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲                    | 第 _____ | 項     |
| <input type="checkbox"/> 図面                       | 第 _____ | ページ/図 |
| <input type="checkbox"/> 配列表(具体的に記載すること)          | _____   |       |
| <input type="checkbox"/> 配列表に関連するテーブル(具体的に記載すること) | _____   |       |

4.  この報告は、補充欄に示したように、この報告に添付されかつ以下に示した補正が出願時における開示の範囲を超えてされたものと認められるので、その補正がされなかつたものとして作成した。(PCT規則70.2(c))

|   |         |       |
|---|---------|-------|
| <input type="checkbox"/> 明細書                      | 第 _____ | ページ   |
| <input type="checkbox"/> 請求の範囲                    | 第 _____ | 項     |
| <input type="checkbox"/> 図面                       | 第 _____ | ページ/図 |
| <input type="checkbox"/> 配列表(具体的に記載すること)          | _____   |       |
| <input type="checkbox"/> 配列表に関連するテーブル(具体的に記載すること) | _____   |       |

\* 4. に該当する場合、その用紙に "superseded" と記入されることがある。

## 配列表に関する補充欄

## 第I欄2. の続き

1. この国際出願で開示されかつ請求の範囲に係る発明に必要なヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下に基づき国際予備報告を作成した。

- a. タイプ  配列表  
 配列表に関連するテーブル
- b. フォーマット  書面  
 コンピュータ読み取り可能な形式
- c. 提出時期  出願時の国際出願に含まれる  
 この国際出願と共にコンピュータ読み取り可能な形式により提出された  
 出願後に、調査又は予備審査のために、この国際機関に提出された  
 \_\_\_\_\_ 付けで、この国際予備審査機関が補正\*として受理した
2.  さらに、配列表又は配列表に関連するテーブルを提出した場合に、出願後に提出した配列若しくは追加して提出した配列が出願時に提出した配列と同一である旨、又は、出願時の開示を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。
3. 拡足意見：

\*第I欄4. に該当する場合、差替える配列表又は配列表に関連するテーブルに "superseded" と記入されることがある。

第V欄 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条（PCT35条(2)）に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

|                 |  |        |
|-----------------|--|--------|
| 新規性 (N)         | 請求の範囲<br>2, 3, 8, 13-26<br>請求の範囲<br>1, 4-7, 9-12 | 有<br>無 |
| 進歩性 (I S)       | 請求の範囲<br>2, 3, 13-26<br>請求の範囲<br>1, 4-12         | 有<br>無 |
| 産業上の利用可能性 (I A) | 請求の範囲<br>1-26<br>請求の範囲                           | 有<br>無 |

2. 文献及び説明 (PCT規則70.7)

請求の範囲 1, 4~7, 9~12

請求の範囲 1, 4~7, 9~12 に係る発明は文献 1 により新規性を有さない。文献 1 にはトランスジェニック胚由来の肢間葉からマイクロマス培養物を作製し、BMP-2 及び BMP-4 によって軟骨の誘導を行ったこと（実施例 3）形成された軟骨を移植に用いること（請求項 23~26）が記載されており、当該培養物には骨髄間質細胞が含まれていると認められる。

また、BMP-2 及び BMP-4 によらない分化誘導剤またはその候補を用いて分化の程度の比較を行っている（実施例 1, 2, 4~6）

出願人は文献 1 の胚由来の肢間葉に由来するマイクロマス培養物は、未分化な幹細胞が含まれているが、特性や分化段階が雑多に混在したものであること、BMP-2 及び BMP-4 を始めとする分化誘導剤が専ら骨髄間質細胞と接触されることを文献 1 は記載も示唆もしないものであること、本願発明の好適な態様では間質細胞の特性を明らかにし分化するべき方向が明らかな細胞株を培養系として用いているが、文献 1 にはそのよう示唆はないと主張している。

しかしながら、請求項 1, 4~7, 9~12 に記載された発明は多能性幹細胞として特定の均一な細胞集団に含まれるものに限ったものではなく、発育可能な多能性幹細胞が含まれていることしか要件とはなっていないから複数種の細胞が含まれた培養物も発明の対象として含まないということはできない。よって、出願人の主張は請求の範囲の記載に立脚しておらず採用できない。

したがって、文献 1 に記載された発明は請求の範囲 1, 4~7, 9~12 に係る発明と区別することができない。

請求の範囲 8

請求の範囲 8 に係る発明は文献 1-2 により進歩性を有さない。

文献 1 には用いる多能性細胞が温度感受性 SV-40 T 抗原遺伝子を担持するトランスジェニックマウス由来のものとすることが記載されていない点で、本願請求の範囲 8 に係る発明と相違するが、文献 2 に記載されているように多能性幹細胞の供給源として SV-40 T 抗原遺伝子を担持するトランスジェニックマウスは出願時に知られているところである。

よって、当業者であれば文献 1 に記載された幹細胞の取得源であるマウスとして文献 2 に記載のトランスジェニックマウスを用いることは容易になし得ることである。

## 第VI欄 ある種の引用文献

## 1. ある種の公表された文書 (PCT規則70.10)

| 出願番号<br>特許番号              | 公知日<br>(日.月.年) | 出願日<br>(日.月.年) | 優先日 (有効な優先権の主張)<br>(日.月.年) |
|---------------------------|----------------|----------------|----------------------------|
| WO 03/066856 A1<br>[E, X] | 14. 08. 2003   | 06. 02. 2003   | 06. 02. 2002               |

## 2. 書面による開示以外の開示 (PCT規則70.9)

| 書面による開示以外の開示の種類 | 書面による開示以外の開示の日付<br>(日.月.年) | 書面による開示以外の開示に言及している<br>書面の日付 (日.月.年) |
|-----------------|----------------------------|--------------------------------------|
|                 |                            |                                      |

## 補充欄

いずれかの欄の大きさが足りない場合

第 V 欄の続き

請求の範囲 2, 3, 13-26

請求の範囲 2, 3, 13-26 に係る発明は文献 1-2 に対して進歩性を有する。

文献 1, 2 には骨髓間質細胞を発育させる過程で、骨髓間質細胞を少なくとも 2 つの方向への細胞の分化を促進および/または抑制しうる物質で処理することが記載されていない。また、当業者といえども、文献 1, 2 に記載された発明及び周知慣用技術から請求の範囲 2, 3, 13-26 に係る発明を容易に想到しうるということもできない。

該作用剤が該細胞を少なくとも 2 つの方向への細胞の分化を促進および／または抑制することが期待される候補作用物質であることを特徴とする評価方法。

8. 多能性幹細胞が、温度感受性 SV-40 T 抗原遺伝子を担持するトランスジェニックマウス由来である請求項 7 記載の評価方法。

5 9. 候補作用剤による該細胞の分化の程度が、多能性幹細胞を発育させる過程で該細胞が該細胞の分化の促進または抑制をもたらしうるサイトカインと接触されてもたらされる分化の程度と比較される請求項 7 または 8 記載の評価方法。

10 10. サイトカインが、オンコスタチンM (OSM) 、骨形成因子-2 (BMP-2) 、骨形成因子-4 (BMP-4) 、グロース・ディファレンシェーシヨン・ファクター-5 (GDF-5) およびトランスフォーミング増殖因子 (TGF- $\beta$ 2) からなる群より選ばれる請求項 9 記載の評価方法。

11. 請求項 1、2 および 4～6 のいずれかの一つに記載の細胞の誘導方法により誘導された細胞を主体とする再生医療用調製物。

12. 細胞が哺乳動物由来である請求項 11 記載の調製物。

15 13. 2 種以上が組み合わさったサイトカインを有効成分とし、かつ 骨髓間質細胞を包含する多能性幹細胞の 3 以上の分化の方向性の決定と方向性の決定された各細胞における分化の程度が制御できる、ことを特徴とする哺乳動物細胞の分化を制御するためのサイトカインのセット。

20 14. 多能性幹細胞が骨髓間質細胞であり、分化の方向性が 3 以上である請求項 13 記載のサイトカインのセット。

15. (補正後) 前記分化の方向性が、平滑筋細胞、骨格筋細胞、心筋細胞、内皮細胞および脂肪細胞に向かうことからなる群より選ばれる請求項 13 または 14 記載のサイトカインのセット。

25 16. 前記各分化の程度が、血清の存在下でもたらされる分化のいずれか一つに比べ少なくとも 10 % 促進または抑制される請求項 13～15 のいずれかに記載のサイトカインのセット。

17. 2 種以上が組み合わさったサイトカインが、骨形成因子-2 (BMP-2) 、骨形成因子-4 (BMP-4) 、オンコスタチンM (OSM) 、グロース・

ディファレンシェーション・ファクター（GDF-5）およびトランスフォーミング増殖因子（TGF- $\beta$ 2）からなる群より選ばれる請求項13～16のいずれかに記載のサイトカインのセット。

18. 組み合わされたサイトカインが、BMP-2とBMP-4、BMP-2とOSM、BMP-2とTGF- $\beta$ 2、BMP-2とBMP-4とOSM、OSM-BMP-4、OSMとTGF- $\beta$ 2、OSMとGDF-5、OSMとGDF-5とBMP-4、OSMとGDF-5とTGF- $\beta$ 2とBMP-4、BMP-2とOSMとGDF-5とBMP-4およびBMP-2とOSMとGDF-5とTGF- $\beta$ 2とBMP-4からなる群より選ばれる請求項17記載のサイトカインのセット。  
10

19. 骨髓間質細胞が、BMP-2による刺激により少なくとも平滑筋細胞、拍動する心筋細胞および内皮細胞に分化しうる多能性成体幹細胞である請求項13～17のいずれかに記載のサイトカインのセット。

20. (補正後) 骨髓間質細胞が温度感受性SV-40T抗原遺伝子を担持するトランスジェニックマウス由来である請求項13～19のいずれかに記載のサイトカインのセット。  
15

21. (補正後) 骨髓間質細胞の分化が、イン・ビトロ (in vitro) 、エクス・ビボ (ex vivo) およびイン・ビボ (in vivo) からなる群から選ばれる環境下で誘導される請求項13～19のいずれかに記載のサイトカインのセット。

22. ex vivo または in vivo での骨髓間質細胞の分化が再生医療における細胞移植に際して利用されるものである請求項13～19のいずれかに記載のサイトカインのセット。  
20

23. in vitro での骨髓間質細胞の分化が、該細胞を分化しうる能力を有する作用剤をスクリーニングするのに利用されるものである請求項20記載のサイトカインのセット。  
25

24. (A) 温度感受性SV-40T抗原遺伝子を担持するトランスジェニックマウス由来の多能性の骨髓間質細胞を用意し、

(B) 該細胞を、分化しうる能力を有することが期待される候補作用剤の存在下で該細胞を増殖しうる培地で培養し、

(C) 培養細胞の分化の方向性または分化の程度を決定し、そして

(D) こうして決定された分化の方向性または分化の程度についての結果を

5 該作用剤の不存在下での該細胞の培養結果と比べ、両結果の差異を該作用剤が骨髓間質細胞の分化能に及ぼす作用の指標とすることを特徴とする脊椎動物細胞の分化能を有する薬剤のスクリーニング方法。

25. (補正後) 比較作用剤として、BMP-2、BMP-4、OSM、GDF-5およびTGF- $\beta$  2からなる群から選ばれる少なくとも2種が利用される請求項24記載のスクリーニング方法。

26. 無血清培地で培養が行われる請求項25記載のスクリーニング方法。